

PCT/JP 2004/013298

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

14. 9. 2004

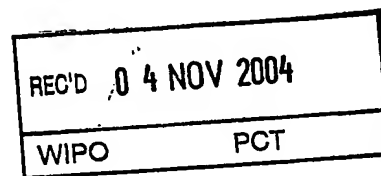
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日            2 0 0 3 年   9 月 2 2 日  
Date of Application:

出 願 番 号            特 願 2 0 0 3 - 3 3 0 7 3 6  
Application Number:  
[ST. 10/C]:            [ J P 2 0 0 3 - 3 3 0 7 3 6 ]

出 願 人            平田機工株式会社  
Applicant(s):        株式会社 エフェクター細胞研究所

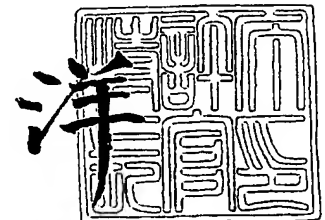


PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年 1 0 月 2 2 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小 川



BEST AVAILABLE COPY

出証番号    出証特 2 0 0 4 - 3 0 9 5 4 7 8

【書類名】 特許願  
【整理番号】 PH052  
【あて先】 特許庁長官殿  
【国際特許分類】 C12M 1/34  
C12M 1/02  
C12M 1/26  
C12N 5/06  
G01N 33/48

【発明者】  
【住所又は居所】 東京都品川区戸越3丁目9番20号  
平田機工株式会社内  
【氏名】 野口 幸一

【発明者】  
【住所又は居所】 東京都品川区戸越3丁目9番20号  
平田機工株式会社内  
【氏名】 松村 和幸

【発明者】  
【住所又は居所】 東京都品川区戸越3丁目9番20号  
平田機工株式会社内  
【氏名】 光永 武史

【発明者】  
【住所又は居所】 東京都目黒区駒場4丁目2番3号211  
【氏名】 金ヶ崎 士朗

【特許出願人】  
【識別番号】 391032358  
【氏名又は名称】 平田機工株式会社  
【代表者】 平田 耕也

【代理人】  
【識別番号】 100108545  
【弁理士】  
【氏名又は名称】 井上 元廣

【手数料の表示】  
【予納台帳番号】 096542  
【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】  
【物件名】 特許請求の範囲 1  
【物件名】 明細書 1  
【物件名】 図面 1  
【物件名】 要約書 1

## 【書類名】 特許請求の範囲

## 【請求項 1】

細胞の走化性を検出したり、走化性細胞を分離したりするための装置に用いられ、底部中央に細胞の動きを観察するための窓が設けられた皿状の底支持体と、前記底支持体の底面上に載置されるガラス基板と、底部中央に開口部が形成され、前記底支持体に装着されて、前記ガラス基板を上方から圧し、これを前記底支持体の底面上に固定する皿状の中間支持体と、細胞浮遊液および走化性因子含有溶液を通す通孔が上下方向に複数貫通形成されるとともに、前記ガラス基板の中央部の表面上に定置されて、前記ガラス基板との間に少なくとも一對のウエルと、これらのウエルを連通する流路とを形成する凹凸形状が、前記ガラス基板との対向面に形成されている基板と、前記細胞浮遊液および前記走化性因子含有溶液を通す通孔が上下方向に複数貫通形成されていて、前記中間支持体の底部中央に形成された前記開口部に嵌め込まれ、前記基板を上方から圧するパッキン部材と、底部中央に前記細胞浮遊液および前記走化性因子含有溶液を通す通孔が上下方向に複数貫通形成されていて、前記中間支持体が装着される底支持体に装着され、前記基板を前記パッキン部材を介して上方から圧して、これを前記ガラス基板上に固定する皿状のカバーブロック体と、

前記一對のウエルと前記流路とを満たしている溶液の温度を所定の温度に管理する溶液温度調整装置とを備え、

前記一對のウエルのうちの一方のウエルには、前記細胞浮遊液が、前記カバーブロック体、前記パッキン部材および前記基板にそれぞれ形成された複数の通孔のうちの1つの通孔を連ねて供給もしくは採取され、他方のウエルには、前記走化性因子含有溶液が、前記カバーブロック体、前記パッキン部材および前記基板にそれぞれ形成された複数の通孔のうちの他の1つの通孔を連ねて供給もしくは採取されて、これらの溶液もしくはこれらの溶液を含む混合液の温度を所定の温度に保持しつつ、前記一方のウエルから前記他方のウエルに前記流路を通して細胞が移動する状態およびその数が、前記底支持体に設けられた前記窓を通して観察、計測できるようにされて成る細胞観察チェンバー内の前記溶液温度調整装置が、

前記一對のウエルと前記流路とを満たしている溶液の温度を測定して、これを所定の温度に調整する第1の温度調整器と、

前記細胞観察チェンバーを外部から加熱して、これにより、前記一對のウエルと前記流路とを満たしている溶液を間接的に加熱する加熱部の温度を測定して、これを所定の予熱温度に調整する第2の温度調整器と

を備えていることを特徴とする細胞観察チェンバー内の溶液温度調整装置。

## 【請求項 2】

前記第1の温度調整器は、前記一對のウエルと前記流路とを満たしている溶液の温度を測定する温度センサーを備え、

前記温度センサーは、前記細胞観察チェンバーに着脱自在に装着されて、その温度測定部が、前記細胞観察チェンバー内に形成された液溜め室内の溶液中に浸漬されており、

前記液溜め室は、その中の溶液が、前記加熱部による間接的な加熱を前記一對のウエルと前記流路とを満たしている溶液と等しく受けることができる、隔離された位置に設けられている

ことを特徴とする請求項1に記載の細胞観察チェンバー内の溶液温度調整装置。

## 【請求項 3】

前記第2の温度調整器は、前記加熱部の過熱防止機能を備えていることを特徴とする請求項1または請求項2に記載の細胞観察チェンバー内の溶液温度調整装置。

## 【請求項 4】

細胞の走化性を検出したり、走化性細胞を分離するための装置に用いられ、底部中央に細胞の動きを観察するための窓が設けられた皿状の底支持体と、

前記底支持体の底面上に載置されるガラス基板と、  
底部中央に開口部が形成され、前記底支持体に装着されて、前記ガラス基板を上方から  
押し、これを前記底支持体の底面上に固定する皿状の中間支持体と、

細胞浮遊液および走化性因子含有溶液を通す通孔が上下方向に複数貫通形成されるとと  
もに、前記ガラス基板の中央部の表面上に定置されて、前記ガラス基板との間に少なくと  
も一對のウエルと、これらのウエルを連通する流路とを形成する凹凸形状が、前記ガラス  
基板との対向面に形成されている基板と、

前記細胞浮遊液および前記走化性因子含有溶液を通す通孔が上下方向に複数貫通形成さ  
れていて、前記中間支持体の底部中央に形成された前記開口部に嵌め込まれ、前記基板を  
上方から圧するパッキン部材と、

底部中央に前記細胞浮遊液および前記走化性因子含有溶液を通す通孔が上下方向に複数  
貫通形成されていて、前記中間支持体に装着され、前記基板を前記パッキン部材を介して  
上方から圧して、これを前記ガラス基板上に固定する皿状のカバーブロック体と、

前記一對のウエルと前記流路とを満たしている溶液の温度を所定温度に管理する溶液温  
度調整装置とを備え、

前記一對のウエルのうちの一方のウエルには、前記細胞浮遊液が、前記カバーブロック  
体、前記パッキン部材および前記基板にそれぞれ形成された複数の通孔のうちの1つの通  
孔を連ねて供給もしくは採取され、他方のウエルには、前記走化性因子含有溶液が、前記  
カバーブロック体、前記パッキン部材および前記基板にそれぞれ形成された複数の通孔の  
うちの他の1つの通孔を連ねて供給もしくは採取されて、これらの溶液もしくはこれらの  
溶液を含む混合液の温度を所定の温度に保持しつつ、前記一方のウエルから前記他方のウ  
エルに前記流路を通して細胞が移動する状態およびその数が、前記底支持体に設けられた  
前記窓を通して観察、計測できるようにされて成る細胞観察チェンバー内の前記溶液温度  
調整装置が、

前記一對のウエルと前記流路とを満たしている溶液の温度を測定する温度センサーを備  
え、

前記温度センサーは、前記細胞観察チェンバーに着脱自在に装着されて、その温度測定  
部が、前記細胞観察チェンバー内に形成された液溜め室内の溶液中に浸漬されており、

前記液溜め室は、その中の溶液が、前記加熱部による間接的な加熱を前記一對のウエル  
と前記流路とを満たしている溶液と等しく受けることができる、隔離された位置に設けら  
れている

ことを特徴とする細胞観察チェンバー内の溶液温度調整装置。

【書類名】明細書

【発明の名称】細胞観察チェンバー内の溶液温度調整装置

【技術分野】

【0001】

本願の発明は、細胞観察チェンバー内の溶液温度調整装置に関し、特に細胞が自力で一定の方向に移動するか否かの判定、細胞が自力で一定の方向に移動する状態の観察、自力で一定の方向に移動した細胞の数の計測および自力で一定の方向に移動する細胞の分離等のために使用される装置、すなわち、細胞走化性検出・走化性細胞分離装置において、細胞観察チェンバー内の溶液の温度を所定の温度に管理して、それらの作業の精度を向上させた細胞観察チェンバー内の溶液温度調整装置に関する。

【背景技術】

【0002】

従来、細胞走化性検出・走化性細胞分離装置としては、種々のものが提案され、市販されているが、特に走化性因子による細胞の走化性または走化性因子阻害剤による細胞の走化性阻害を検出するに当たり、少量の細胞試料を用いて、細胞の自力に基づく動きを正確に、しかも、その過程を容易に観察、定量し得るようにした装置として、特開 2002-159287 号公報に記載されたものがある。このものにおいては、また、細胞の走化性を利用して、細胞を分離することも可能である。

【0003】

上記公報に記載された細胞走化性検出・走化性細胞分離装置において、細胞観察チェンバーは、次のように構成されている。

図 16 に図示されるように、その細胞観察チェンバー 00 は、底部中央に細胞の動きを観察する窓 01c を備えた円形の浅い皿状の底支持体 01 と、底支持体 01 の底部 01a 上に載置されるガラス基板 08 と、底支持体 01 に装着されて、後述するカバー 04 の底支持体 01 へのねじ結合により、ガラス基板 08 を上方から押し、これを底部 01a 上に固定する皿状の中間支持体 02 と、中間支持体 02 の底部中央に形成された矩形状の開口部 02c に嵌め込まれて、ガラス基板 08 上に定置される基板 07 およびパッキン部材 010 と、中間支持体 02 の中央凹部に嵌め込まれて、基板 07 をパッキン部材 010 を介して押し、図示されない押しねじによりこれをガラス基板 08 上に固定するブロック体 09 と、底支持体 01 にねじ結合により装着されて、ブロック体 09 を上部から押し、これを中間支持体 02 内に固定するカバー 04 とから成っている。基板 07 は、シリコン単結晶素材から製作されている。

【0004】

底支持体 01 と中間支持体 02 との結合は、底支持体 01 の胴体部内周面に形成された雌ねじ 01d に、中間支持体 02 の胴体部外周面に形成された雄ねじ 02d がねじ込まれることによって、さらに、底支持体 01 とカバー 04 とのねじ結合によってなされる。この底支持体 01 とカバー 04 とのねじ結合は、カバー 04 の袖部内周面に形成された雌ねじ 04a に、底支持体 01 の外周面に形成された雄ねじ 01e がねじ込まれることによってなされる。中間支持体 02 は、そのフランジ部 02b の下面に形成されたガイドピン受孔 02f に底支持体 01 の胴体部上面に立設された図示されないガイドピンが挿通されることによって、底支持体 01 上に位置決めされる。また、ブロック体 09 は、その底面に形成されたガイドピン受孔 09a に中間支持体 02 の底面に立設されたガイドピン 013 が挿通されることによって、中間支持体 02 内に位置決めされる。

【0005】

そして、これらの部品が一体に組み立てられて、使用される状態においては、基板 07 とガラス基板 08 との間に、少なくとも一対のウエルと、これらのウエルを連通する流路とが形成される。これらのウエルのうちの一方のウエルには、細胞浮遊液が入れられ、他方のウエルには、走化性因子含有溶液が入れられて、細胞が、走化性因子に反応して、一方のウエルから他方のウエルに流路を通して移動する。その状態の観察や移動する細胞の数の計測が、窓 01c を通して顕微鏡観察により行なわれる。

## 【0006】

基板07とガラス基板08との間に形成される一方のウエルへの細胞浮遊液の注入、他方のウエルへの走化性因子含有溶液の注入は、マイクロピペットを用いて、ブロック体09、パッキン部材010、基板07にそれぞれ形成された専用の通孔を連ねて行なわれる。底支持体01、中間支持体02、カバー04を組み立てた後、底支持体01に充填された各溶液が漏れないように、中間支持体02とガラス基板08との間には、Oリング011が介装されている。他方、パッキン部材010も、基板07とブロック体09との間にあって、両ウエルとそれらの間を結ぶ流路から溶液が漏れないようにするために役立つ。

## 【0007】

ところで、一方のウエルから他方のウエルに流路を通して移動する細胞の状態の観察や、移動する細胞の数の計測を正確に行なうのには、これらの領域を満たしている細胞浮遊液や走化性因子含有溶液もしくはそれらを含む混合液の温度を、細胞の活動に適した温度に管理する必要がある。また、細胞の温度変化による反応等をより正確に計測、分析したいときにも、溶液の温度管理は必要である。そのために、この装置においては、細胞観察チェンバー00を図示されない発熱体から成る加熱部上に載置して、この加熱部の温度を所定の温度に管理しながら、底支持体01の壁を通して間接的にこれらの溶液を加熱して、これらの溶液の温度が所望の温度になるように調整する温度調整装置が用いられている。

## 【0008】

従来の細胞観察チェンバーは、前記のように構成されており、その細胞観察チェンバー00内のウエルや、ウエルとウエルとを連通する流路内を満たす溶液の加熱は、細胞観察チェンバー00の外部から、例えば、底支持体01の壁を通して間接的に行なわれており、温度センサーも外部に取り付けられているので、溶液の温度を所望の一定の温度に保持するのが容易でなく、溶液の温度管理の精度が十分とは言い難かった。

【特許文献1】特開2002-159287号公報

【特許文献1】特開2003-088357号公報

## 【発明の開示】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0009】

本願の発明は、従来の細胞観察チェンバー内の溶液温度調整装置が有する前記のような問題点を解決して、細胞観察チェンバー内の溶液の温度を所望の一定の温度に保持するのが容易で、溶液の温度管理の精度を向上させることができ、牽いては、細胞の走行性の検出、計測、走行性細胞の分離等の作業の精度を高めることができる、細胞観察チェンバー内の溶液温度調整装置を提供することを課題とする。

## 【課題を解決するための手段】

## 【0010】

本願の発明は、前記のような課題を解決した細胞観察チェンバー内の溶液温度調整装置に係り、

その請求項1に記載された発明は、細胞の走化性を検出したり、走化性細胞を分離したりするための装置に用いられ、底部中央に細胞の動きを観察するための窓が設けられた皿状の底支持体と、前記底支持体の底面上に載置されるガラス基板と、底部中央に開口部が形成され、前記底支持体に装着されて、前記ガラス基板を上方から押し、これを前記底支持体の底面上に固定する皿状の中間支持体と、細胞浮遊液および走化性因子含有溶液を通す通孔が上下方向に複数貫通形成されるとともに、前記ガラス基板の中央部の表面上に定置されて、前記ガラス基板との間に少なくとも一対のウエルと、これらのウエルを連通する流路とを形成する凹凸形状が、前記ガラス基板との対向面に形成されている基板と、前記細胞浮遊液および前記走化性因子含有溶液を通す通孔が上下方向に複数貫通形成されていて、前記中間支持体の底部中央に形成された前記開口部に嵌め込まれ、前記基板を上方から圧するパッキン部材と、底部中央に前記細胞浮遊液および前記走化性因子含有溶液を通す通孔が上下方向に複数貫通形成されていて、前記中間支持体が装着される底支持体に

装着され、前記基板を前記パッキン部材を介して上方から圧して、これを前記ガラス基板の上に固定する皿状のカバーブロック体と、前記一对のウエルと前記流路とを満たしている溶液の温度を所定の温度に管理する溶液温度調整装置とを備え、前記一对のウエルのうちの一方のウエルには、前記細胞浮遊液が、前記カバーブロック体、前記パッキン部材および前記基板にそれぞれ形成された複数の通孔のうちの1つの通孔を連ねて供給もしくは採取され、他方のウエルには、前記走化性因子含有溶液が、前記カバーブロック体、前記パッキン部材および前記基板にそれぞれ形成された複数の通孔のうちの他の1つの通孔を連ねて供給もしくは採取されて、これらの溶液もしくはこれらの溶液を含む混合液の温度を所定の温度に保持しつつ、前記一方のウエルから前記他方のウエルに前記流路を通して細胞が移動する状態およびその数が、前記底支持体に設けられた前記窓を通して観察、計測できるようにされて成る細胞観察チェンバー内の前記溶液温度調整装置が、前記一对のウエルと前記流路とを満たしている溶液の温度を測定して、これを所定の温度に調整する第1の温度調整器と、前記細胞観察チェンバーを外部から加熱して、これにより、前記一对のウエルと前記流路とを満たしている溶液を間接的に加熱する加熱部の温度を測定して、これを所定の予熱温度に調整する第2の温度調整器とを備えていることを特徴とする細胞観察チェンバー内の溶液温度調整装置である。

#### 【0011】

請求項1に記載された発明は、前記のように構成されており、その細胞観察チェンバー内の溶液温度調整装置は、第1の温度調整器と第2の温度調整器とを備え、第1の温度調整器は、一对のウエルと流路とを満たしている溶液の温度を測定して、これを所定の温度に調整し、第2の温度調整器は、細胞観察チェンバーを外部から加熱して、これにより、一对のウエルと流路とを満たしている溶液を間接的に加熱する加熱部の温度を測定して、これを所定の予熱温度に調整するので、第2の温度調整器により所定の予熱温度に調整された加熱部に細胞観察チェンバーを載置し、次いで、第1の温度調整器により、細胞観察チェンバー内的一对のウエルと流路とを満たしている溶液の温度を測定しつつ、これを所定の温度に調整し、保持することができ、この結果、細胞観察チェンバー内の溶液の温度を所望の一定の温度にするのに要する時間を短縮して、その温度管理の精度を格段に向上させることができる。

#### 【0012】

また、請求項2に記載されるように請求項1に記載の細胞観察チェンバーを構成することにより、第1の温度調整器は、一对のウエルと流路とを満たしている溶液の温度を測定する温度センサーを備え、該温度センサーは、細胞観察チェンバーに着脱自在に装着されて、その温度測定部が、細胞観察チェンバー内に形成された液溜め室内の溶液中に浸漬されており、該液溜め室は、その中の溶液が、加熱部による間接的な加熱を一对のウエルと流路とを満たしている溶液と等しく受けることができる、隔離された位置に設けられているようにされる。

#### 【0013】

これにより、液溜め室内の溶液は、一对のウエルと流路とを満たしている溶液と同じように昇温するので、第1の温度調整器が備える温度センサーの温度測定部は、一对のウエルや流路内に満たされた細胞を含む溶液を汚染することなくして、その溶液の温度を正確に測定することができる。また、温度センサーは、細胞観察チェンバーに着脱自在に装着されるので、その取付け・取外しは簡単であり、細胞観察チェンバーの組立・分解に際して、それを取り外すことにより、邪魔になることもなく、組立・分解作業を円滑に行なうことができる。

#### 【0014】

さらに、請求項3に記載されるように請求項1または請求項2に記載の細胞観察チェンバーを構成することにより、第2の温度調整器は、加熱部の過熱防止機能を備えているようにされる。

#### 【0015】

この結果、細胞の死滅や走化性因子含有溶液等試料溶液の機能の損傷を防ぐことができ



るとともに、細胞観察チェンバーの過熱による損傷を防ぐことができる。また、加熱部と細胞観察チェンバーとの間に接触不良があったとしても、確実に、加熱部の過熱を防ぐことができる。

**【0016】**

また、その請求項4に記載された発明は、細胞の走化性を検出したり、走化性細胞を分離するための装置に用いられ、底部中央に細胞の動きを観察するための窓が設けられた皿状の底支持体と、前記底支持体の底面上に載置されるガラス基板と、底部中央に開口部が形成され、前記底支持体に装着されて、前記ガラス基板を上方から押し、これを前記底支持体の底面上に固定する皿状の中間支持体と、細胞浮遊液および走化性因子含有溶液を通す通孔が上下方向に複数貫通形成されるとともに、前記ガラス基板の中央部の表面上に定置されて、前記ガラス基板との間に少なくとも一対のウエルと、これらのウエルを連通する流路とを形成する凹凸形状が、前記ガラス基板との対向面に形成されている基板と、前記細胞浮遊液および前記走化性因子含有溶液を通す通孔が上下方向に複数貫通形成されていて、前記中間支持体の底部中央に形成された前記開口部に嵌め込まれ、前記基板を上方から圧するパッキン部材と、底部中央に前記細胞浮遊液および前記走化性因子含有溶液を通す通孔が上下方向に複数貫通形成されていて、前記中間支持体に装着され、前記基板を前記パッキン部材を介して上方から圧して、これを前記ガラス基板上に固定する皿状のカバーブロック体と、前記一対のウエルと前記流路とを満たしている溶液の温度を所定温度に管理する溶液温度調整装置とを備え、前記一対のウエルのうちの一方のウエルには、前記細胞浮遊液が、前記カバーブロック体、前記パッキン部材および前記基板にそれぞれ形成された複数の通孔のうちの1つの通孔を連ねて供給もしくは採取され、他方のウエルには、前記走化性因子含有溶液が、前記カバーブロック体、前記パッキン部材および前記基板にそれぞれ形成された複数の通孔のうちの他の1つの通孔を連ねて供給もしくは採取されて、これらの溶液もしくはこれらの溶液を含む混合液の温度を所定の温度に保持しつつ、前記一方のウエルから前記他方のウエルに前記流路を通して細胞が移動する状態およびその数が、前記底支持体に設けられた前記窓を通して観察、計測できるようにされて成る細胞観察チェンバー内の前記溶液温度調整装置が、前記一対のウエルと前記流路とを満たしている溶液の温度を測定する温度センサーを備え、前記温度センサーは、前記細胞観察チェンバーに着脱自在に装着されて、その温度測定部が、前記細胞観察チェンバー内に形成された液溜め室内の溶液中に浸漬されており、前記液溜め室は、その中の溶液が、前記加熱部による間接的な加熱を前記一対のウエルと前記流路とを満たしている溶液と等しく受けることができる、隔離された位置に設けられていることを特徴とする細胞観察チェンバー内の溶液温度調整装置である。

**【0017】**

請求項4に記載された発明は、前記のように構成されており、その細胞観察チェンバー内の溶液温度調整装置は、一対のウエルと流路とを満たしている溶液の温度を測定する温度センサーを備え、該温度センサーは、細胞観察チェンバーに着脱自在に装着されて、その温度測定部が、細胞観察チェンバー内に形成された液溜め室内の溶液中に浸漬されており、該液溜め室は、その中の溶液が、加熱部による間接的な加熱を一対のウエルと流路とを満たしている溶液と等しく受けることができる、隔離された位置に設けられているので、液溜め室内の溶液は、一対のウエルと流路とを満たしている溶液と同じように昇温することができる、第1の温度調整器が備える温度センサーの温度測定部は、一対のウエルや流路内に満たされた細胞を含む溶液を汚染することなくして、その溶液の温度を正確に測定することができる。また、温度センサーは、細胞観察チェンバーに着脱自在に装着されるので、その取付け・取外しは簡単であり、細胞観察チェンバーの組立・分解に際して、それを取り外すことにより、邪魔になることもなく、組立・分解作業を円滑に行なうことができる。

**【発明の効果】****【0018】**

以上に説明したとおり、本願の発明によれば、細胞観察チェンバー内の溶液の温度を所



望の一定の温度にするのに要する時間を短縮して、その溶液の温度管理の精度を格段に向上させることができる。また、第1の温度調整器が備える温度センサーの温度測定部は、一对のウエルや流路内に満たされた細胞を含む溶液を汚染することなく、その溶液の温度を正確に測定することができる。また、加熱部の過熱を防ぐことができ、加熱部の過熱に原因する細胞の死滅、試料溶液（細胞浮遊液、走化性因子含有溶液等）の機能の損傷、細胞観察チェンバーの損傷等を確実に防ぐことができる。さらに、温度センサーの取付け・取外しは簡単であり、細胞観察チェンバーの組立・分解に際して、それを取り外すことにより、邪魔になることもなく、組立・分解作業を円滑に行なうことができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0019】

細胞観察チェンバー内の溶液の温度管理のために、第1の温度調整器と第2の温度調整器とを用い、第1の温度調整器は、細胞観察チェンバー内的一对のウエルと流路とを満たしている溶液の温度を測定して、これを所定の温度に調整するための温度調整器とし、第2の温度調整器は、細胞観察チェンバーを外部から加熱して、これにより、一对のウエルと流路とを満たしている溶液を間接的に加熱する加熱部の温度を測定して、これを所定の予熱温度に調整するための温度調整器とする。そして、一对のウエルと流路とを満たしている溶液の温度を正確に所定の温度に保持しつつ、一方のウエルから他方のウエルに流路を通して細胞が移動する状態およびその数を観察、計測できるようにする。

【0020】

また、第1の温度調整器が備える温度センサーの温度測定部は、細胞観察チェンバーに着脱自在に装着し、細胞観察チェンバー内に形成された液溜め室内の溶液中に浸漬させて、この液溜め室内の溶液の温度を測定させる。この液溜め室は、その中の溶液が、加熱部による間接的な加熱を一对のウエルと流路とを満たしている溶液と等しく受けることができる、隔離された位置に設ける。さらに、第2の温度調整器には、加熱部の過熱防止機能を備えさせる。

【実施例】

【0021】

次に、本願の発明の一実施例について説明する。

先ず、本願の発明が適用される細胞走化性検出・走化性細胞分離装置の作動原理について説明する。この細胞走化性検出・走化性細胞分離装置は、複数のウエルが流路を挟んで結合し、互いに連通しており、それぞれのウエルには、試料を注入もしくは採取するための管およびおおよび試料の注入もしくは採取によるウエル内の昇圧もしくは減圧を回避するための管の2本の管が設けられている。この管は、ブロックに形成された通孔により形成されてもよい。ここで、流路とは、2つのウエルを連通させている部分であり、一方のウエルから他方のウエルに細胞が移動するときに、細胞が通過する通路である。この装置によれば、試料を注入・採取する際、流路において相対するウエルに向かう方向の液流が生じにくく、流路の両端にあるウエルの液体が互いに混ざり合うことがなく、その結果、細胞が専ら走化性因子の作用のみによって移動する場合を検出することができる。

【0022】

図に基づいて、その原理を説明すると、図1および図2において、1は流路、2は細胞浮遊液や検体溶液等の試料を収納するウエルであり、一对のウエル2A、2Bから成る。これらの試料は、マイクロピペット等により、ブロック体9に形成された通孔3を通じてウエル2に供給され、また、ウエル2から採取される。ウエル2の一方のウエル2Aに細胞浮遊液を入れたとき、細胞は、他方のウエル2Bに入れられた検体溶液が走化性因子を含むもの（走化性因子含有溶液）である場合には、ウエル2Bに向かって移動しようとし、流路1を通過する。

【0023】

試料の1つである細胞浮遊液を、マイクロピペット等により、通孔3を通じてウエル2Aに供給する際、注入する液圧により、細胞が流路1を通過して反対側のウエル2Bに移動してしまうことが生じる。この事態が生ずると、細胞の移動が検体の有する走化性因子

によるのか否かの判定に混乱を与える要因になるとともに、細胞の分離を目的とする場合には、所望の細胞に他の細胞が混入してしまうことになり、目的が達せられないことになる。この問題点を解決するために、この装置においては、通孔3に加わる注入圧を通孔4の方に逃がし、流路1に向かって細胞が強制的に流されることを防止している。

#### 【0024】

同様に、検体溶液を、マイクロピペット等により、通孔3を通じてウエル2Bに供給する際にも、注入する液圧により、検体溶液が流路1を通過して反対側のウエル2Aに入り、細胞浮遊液と混合する事態が生じ、細胞がその走化性により流路1を通過する現象が混乱ないし阻害される。このような事態の発生を防止するために、検体を収納するウエル2Bにおいても、通孔4を設けるようにしている。

#### 【0025】

このようにして、試料を注入する通孔3に連通する通孔4を設けることにより、水平方向への液圧の影響を最小にすることができ、検体溶液が走化性を有するか否かの判定をより正確に行なうことができる。通孔4による圧力差の緩和作用は、ウエルから細胞などの試料を採取する際の減圧を緩和する上でも有効であり、試料の採取を容易にする。

#### 【0026】

本装置において、ウエル2に試料を注入する場合を、図1により説明すると、予め各ウエル2A、2Bおよび流路1を細胞等張液で満たしておき、ウエル2Aの通孔3から細胞浮遊液を、ウエル2Bの通孔3から走化性因子含有溶液を、それぞれ略等量ずつ注入する。このようにすることにより、試料注入時の昇圧は、通孔4により緩和される。

#### 【0027】

流路1は、図3ないし図5に図示されるように、ウエル2Aからウエル2Bに、もしくはその逆に向かう方向と直交する方向に走る障壁6に、ウエル2Aからウエル2Bに、もしくはその逆に向かう方向に沿わせて形成された1本ないし複数本、例えば、約100本の溝5により構成されている。これらの溝5は、細胞の径もしくはその変形能に合わせた幅に形成される。このような溝5を設けることによって、細胞を個々のレベルで観察することが可能になり、また、細胞を所望の種類毎に分離することが可能になる。

なお、図1ないし図3における符号7aは、ウエル2Aとウエル2Bとの間に形成される土手を示し、図3および図4における符号7bは、土手7aに形成されるテラスを示している。テラス7bは、障壁6を囲む平坦部である。

#### 【0028】

細胞が流路1を移動する状態の観察、流路1を通過中もしくは通過後の細胞数の計測は、図3に図示されるように、流路1に検知装置、例えば、顕微鏡70をセットすることによって行なわれる。また、顕微鏡とビデオカメラあるいはCCDカメラとを組み合わせることにより、自動的に細胞が移動する経過を記録することができる。

#### 【0029】

以上に説明したような、通孔3、4をそれぞれ備えたウエル2A、2Bが流路1を介して連通されて成る装置を1ユニットとして、複数のユニットを集積させることにより、他種類の検体または他種類の細胞を対象として、同時に細胞の移動（走化性）の検出や走化性細胞の分離を行なうことができる装置を構成することができる。このような装置は、全体的に小型化されており、試料の処理を微量で行なうことができる。また、液体の注入・採取量のプログラム制御により、処理を自動化して行なうことが容易である。

#### 【0030】

以上に説明したような、通孔3、4をそれぞれ備えたウエル2A、2Bが流路1を介して連通されて成るユニットは、実際には、次のようにして製作される。

ウエル2A、2B、流路1の内部形状は、シリコン単結晶素材から成る基板7の表面上に、既知の集積回路の製作技術を応用することによって形成することができる。このようにして、その表面上にウエル2A、2B、流路1の内部形状を写した凹凸形状が刻設された基板7をガラス基板8と対面させて、重ね合わせれば、それら両基板7、8の間にウエル2A、2B、流路1が形成される。

## 【0031】

基板7には、また、ウエル2A、ウエル2Bのそれぞれに対応させて、細胞浮遊液もしくは走化性因子含有溶液を通す通孔3'が上下方向に貫通形成されているとともに、それらの溶液をウエル2A、ウエル2Bに注入もしくはそこから採取するに際して生ずる昇圧、降圧を緩和させるための通孔4'が、通孔3'と対にされて、上下方向に貫通形成されている。これら一対の通孔3'、4'は、ウエル2Aもしくはウエル2Bを介して連通しているとともに、ブロック体9に上下方向に貫通形成された通孔3、4にそれぞれ連通している。なお、基板7とブロック体9との間には、実際には、パッキンが介在させられて、それらの間の液封がなされるようになっている。

## 【0032】

次に、前記したような、通孔3、4をそれぞれ備えたウエル2A、2Bが流路1を介して連通されて成るユニットが複数組み込まれて成る本実施例の細胞観察チェンバーについて、詳細に説明する。

まず、本実施例の細胞観察チェンバーが適用される細胞走化性検出・走化性細胞分離装置の全体構造のあらましについて説明する。

## 【0033】

図6に図示されるように、本実施例の細胞観察チェンバー30が適用される細胞走化性検出・走化性細胞分離装置10は、比較的高さの低い直方体形状のケーシング20の上面からその一部が露出するようにして、細胞観察チェンバー30が収納されている。また、そのケーシング20の上面には、ノート型パソコン50が設置されており、このノート型パソコン50の作動により、細胞浮遊液等含有溶液の温度制御部に対する指令、同温度データや細胞観察データの解析、記録、モニター表示等が行なわれる。このモニター表示には、細胞の実際の動きの映像表示も含まれる。

## 【0034】

ケーシング20の上面には、他に水準器21が取り付けられており、装置10の水平を常時監視することができる。また、ケーシング20の前側面には、図6において右下方から左上方に向かって順に、顕微鏡による細胞観察画像の明るさ（ライトの強弱）調整つまみ22、顕微鏡の位置調整つまみ23、焦点調整レバー24等が取り付けられている。図示されない顕微鏡の光学系光軸は、ケーシング20内において水平に配置されているので、ケーシング20、牽いては装置10の全高を低くすることができ、机上に置かれた本装置10に対して、座位にて細胞走化性の検出、走化性細胞の分離、計数等の作業を行なうことができ、操作性が大きく改善される。

## 【0035】

細胞観察チェンバー30は、次のようにして構成されている。

図7は、本細胞観察チェンバー30の全体斜視図、図8は、同平面図、図9は、同前側面図、図10は、同右側面図、図11は、同X I-X I線矢視断面図、図12は、同X I I-X I I線矢視断面図、図13は、同一部分斜視図、図14は、さらに分解を進めた同一部分斜視図である。

## 【0036】

図7～図10、図13および図14に図示されるように、本細胞観察チェンバー30は、その外観および後述するカム操作レバー36、37の簡単な回動操作によるその一部分解から、次のようにして構成されていることが理解されるであろう。すなわち、最下段に配置される円形皿状の底支持体31の上には、同じく円形皿状の中間支持体32が装着され、中間支持体32の上には、同じく円形皿状で、底部33aが比較的厚く、外周フランジ部33bが比較的幅広のカバーブロック体33が装着され、カバーブロック体33の上には、該カバーブロック体33の中央凹部33cを跨ぎ、その中央膨大部34aを該中央凹部33cに沈めるようにして、ガイドブロック体34が装着され、カバーブロック体33の上面には、温度センサー35の台座部分35aが着座させられている。

## 【0037】

そして、カバーブロック体33は、カム操作レバー36を回動することにより、中間支

持体 32 に上方から圧接され、これにより、中間支持体 32 が、底支持体 31 に上方から圧接されて、最終的には、カバーブロック体 33 が、底支持体 31 に装着される。また、中間支持体 32 は、カム操作レバー 37 を回動することにより、底支持体 31 に上方から圧接されて、これに装着される。なお、実際の装着の順序は、中間支持体 32 が底支持体 31 に装着されてから、カバーブロック体 33 が底支持体 31 に装着されることになる。分解の場合には、この逆の順序になる。カバーブロック体 33 は、従来の細胞観察チェンバー 00 (図 16 参照) におけるブロック体 09 とカバー 04 とが合体されたものに相当している。

#### 【0038】

カム操作レバー 36、37 は、いずれも平面視コの字状をなしており、それらの両脚部の端部 36a、37a は、円形皿状の底支持体 31 の胴体部 31b の外周面上であって、その軸心に関して対称の位置に植設された一対の支持軸 38 の回りに回動自在に支持されている。また、それらの両脚部の端部 36a、37a は、正面視矩形状に膨大化されていて、それらの内面には、カム操作レバー 36 については、カム溝 36b が、カム操作レバー 37 については、カム溝 37b が、それぞれ湾曲状に形成されている (図 13、図 14 参照)。

#### 【0039】

円形皿状のカバーブロック体 33 の外周フランジ部 33b の外周面上であって、その軸心に関して対称の位置には、ピン 40 が植設されている (図 14、図 11 参照)。このピン 40 は、カム操作レバー 36 のカム溝 36b に嵌まり込んで、カム操作レバー 36 が回動操作されるとき、カム溝 36b 内を滑動する。これにより、カバーブロック体 33 は、その外周フランジ部 33b の下面が中間支持体 32 の外周フランジ部 32b の上面に上方から接近して、これに当接し、底支持体 31 に装着される。また、カム操作レバー 36 を逆に回動操作することにより、カバーブロック体 33 は、底支持体 31 から取り外される。カバーブロック体 33 の外周フランジ部 33b と中間支持体 32 の外周フランジ部 32b との間には、カバーブロック体 33 が中間支持体 32 に装着されたとき、これらの間に形成される内部空間から媒質が漏洩するのを防止するために、リング 42 が介装されている。

#### 【0040】

同様に、円形皿状の中間支持体 32 の外周フランジ部 32b の外周面上であって、その軸心に関して対称の位置には、ピン 41 が植設されている (図 11 参照)。このピン 41 は、カム操作レバー 37 のカム溝 37b に嵌まり込んで、カム操作レバー 37 が回動操作されるとき、カム溝 37b 内を滑動する。これにより、中間支持体 32 は、その外周フランジ部 32b の下面が底支持体 31 の胴体部 31b の上面に上方から接近して、これに当接し、底支持体 31 に堅固に装着される。また、カム操作レバー 37 を逆に回動操作することにより、中間支持体 32 は、底支持体 31 から取り外される。

#### 【0041】

ガイドブロック体 34 の中央膨大部 34a には、上下方向に貫通し、ガイドブロック体 34 の長さ方向に一行に整列させられて、細い 6 個の通孔 34c が形成されている。これらの通孔 34c は、作業者が細胞浮遊液や検体溶液等の試料を含んだマイクロピペット (図示されず) の針先をチェンバー 30 内に挿入し、また、そこから抜き出すときに、マイクロピペットの針先をガイドするとともに、マイクロピペットから吐出されたそれらの溶液を後述するウエル (このウエルは、前記した、一対のウエル 2A、2B (図 1) のうちのいずれかのウエルと同じものである。) に導くのに役立つ。6 個の通孔 34c の整列位置は、ガイドブロック体 34 を平面視幅方向に二分する中心線 a から片方にわずかに変位させられている (図 8 参照)。

#### 【0042】

ガイドブロック体 34 は、その中央膨大部 34a を挟んだ両側のアーム部 34b、34b とカバーブロック体 33 のフランジ部 33b との間にピン 39 が通されることにより、位置決めされて、フランジ部 33b 上に着脱自在に装着されている。したがって、ガイド

ブロック体 34 は、これをカバーブロック体 33 から取り外し、両側のアーム部 34 b、34 b の位置が入れ替わるように 180 度回転させて、反転前と同様にピン 39 により位置決めすることにより、カバーブロック体 33 のフランジ部 33 b 上に再び着脱自在に装着することができる。このとき、6 個の通孔 34 c の整列位置は、反転前の整列位置と中心線 a に関して対称の位置にある。

#### 【0043】

カバーブロック体 33 と中間支持体 32 との間の円周方向の相対的な位置決めを行なうために、一対の位置決め用ピン 46 a、46 b が、カバーブロック体 33 と中間支持体 32 とに跨がるようにして、それぞれに形成された孔内に通されている。同様に、中間支持体 32 と底支持体 31 との間の円周方向の相対的な位置決めを行なうために、一対の位置決め用ピン 47 a、47 b が、中間支持体 32 と底支持体 31 とに跨がるようにして、それぞれに形成された孔内に通されている。ピン 46 a とピン 46 b、ピン 47 a とピン 47 b は、それぞれ異なる径を持ち、組立時の組み間違いを未然に防止する機能を果している。

#### 【0044】

次に、本細胞観察チェンバー 30 の内部構造について、詳細に説明する。

底支持体 31 は、その底部 31 a の中央に、細胞の動きを観察する窓 31 c が設けられている。また、その底面上には、透明なガラス基板 8 が載置されている。このガラス基板 8 は、中間支持体 32 が底支持体 31 に装着されたとき、中間支持体 32 の底部 32 a により底部 31 a に強く押し付けられて、そこに固定される。底部 32 a とガラス基板 8 との間には、それらの外周側に、Oリング 43 が介装されており、これにより、それらの間に形成される内部空間から媒質が漏洩するのを防止するようになっている。

#### 【0045】

ガラス基板 8 の中央部の表面上には、基板 7 が載置されている。これらガラス基板 8、基板 7 は、前記した、図 1 におけるガラス基板 08、基板 07 と基本的に同じ構造の同じものである。したがって、基板 7 のガラス基板 8 と対向する側の表面上には、一対のウエル 2 A、2 B と、これらを連通させる流路 1 の内部形状を写した凹凸形状が 6 ユニット分、刻設されており、これがガラス基板 8 と対面させられて、重ね合わされた状態においては、それら両基板 7、8 間に 6 ユニット分のウエル 2 A、2 B、流路 1 の組合せ構造が形成される。

#### 【0046】

基板 7 には、また、前記のとおり、ウエル 2 A、ウエル 2 B のそれぞれに対応させて、細胞浮遊液もしくは走化性因子含有溶液を通す通孔 3' が上下方向に貫通形成されているとともに、それらの溶液をウエル 2 A、ウエル 2 B に注入もしくはそこから採取するに際して生ずる昇圧、降圧を緩和させるための通孔 4' が、通孔 3' と対にされて、上下方向に貫通形成されている。これら一対の通孔 3'、4' は、ウエル 2 A もしくはウエル 2 B を介して連通している。

#### 【0047】

中間支持体 32 の底部 32 a の中央部には、開口部 32 c が形成されており、この開口部 32 c には、底部 32 a の厚さよりもわずかに厚いパッキン部材 44 が嵌め込まれ、そこから突出して、ガラス基板 8 上に載置された基板 7 を上方から押し、これをガラス基板 8 に押し付けている。

基板 7 は、非常に薄いので、図 11、図 12 においては、ガラス基板 8 とパッキン部材 44 とに挟まれた太い実線の線分として描かれている。基板 7 に形成される通孔 3'、4'、ウエル 2 A、2 B、流路 1 の形状は、図示されていない。

#### 【0048】

このパッキン部材 44 には、基板 7 に貫通形成された通孔 3'、4' にそれぞれ連通する通孔 3-1、4-1 が、通孔 3'、4' の総数と同じ数だけ、上下方向に貫通形成されている。通孔 3'、4' は、それらの一対がウエル 2 A、ウエル 2 B のそれぞれに形成されているから、1 ユニットについて合計 4 個の通孔が形成されていることになり、それが

6ユニット分集積されるから、総計24個の通孔（通孔3-1、4-1の群）が縦横に整列させられて形成されていることになる。通孔3-1は、図11において、紙面と直交する奥方および手前側にあり、図示されていない。

#### 【0049】

なお、パッキン部材44に貫通形成される通孔3-1、4-1は、必ずしも分離して別々に形成される必要はなく、通孔3-1が通孔4-1に合体させられてもよい。このようにしても、例えば、流下する溶液と上昇しようとする気体とが混じり合ってしまうことはなく、気体は、流下する溶液中を抜けて、その上の通孔4-2を通して排気されるから、ウエル内の昇圧を緩和する機能に支障は生じない。図12には、このようにされたパッキン部材44の構造が図示されている。また、そのためには、カバーブロック体33に形成される通孔3-2、4-2の下端部をわずかな長さ切除して、そこに小さな空所を形成するようにすると、昇圧・降圧緩和の機能を一層確実に保持することができる（図12中、通孔3-2、4-2直下の左右2つの小さな空白部参照）。

#### 【0050】

カバーブロック体33が底支持体31に装着されるとき、カバーブロック体33の底部33aの下面は、パッキン部材44の上面に当接して、これを圧する。したがって、基板7は、結局、パッキン部材44を介してカバーブロック体33により押圧されて、ガラス基板8上に固定されることになる。

#### 【0051】

カバーブロック体33の底部33aの周縁寄りの1個所には、チェンバー30内の混合液が中央凹部33cに出入りするのための比較的大径の通孔33dが上下方向に貫通形成されている。また、底部33aの中央部には、パッキン部材44に貫通形成された通孔3-1、4-1に連通する通孔3-2、4-2が、通孔3-1、4-1の総数と同じ数だけ、上下方向に貫通形成されている。これら底部33aの中央部に形成された通孔群のうち、ウエル2A側に属する通孔4-2の6ユニット分、すなわち、ウエル2A側に属する整列させられた6個の通孔4-2は、図8に図示される姿勢でカバーブロック体33に装着されたガイドブロック体34の6個の通孔34cに1対1で対応して、それらの中心線を共有している。

#### 【0052】

ガイドブロック体34を図8に図示される姿勢から180度回転させて、両側のアーム部34b、34bの位置を入れ替えれば、今度は、ウエル2B側に属する整列させられた6個の通孔4-2が、ガイドブロック体34の6個の通孔34cに1対1で対応することになる。ガイドブロック体34のこのような姿勢の転換は、例えば、マイクロピペットによる細胞浮遊液のウエル2Aへの注入と、マイクロピペットによる走化性因子含有溶液のウエル2Bへの注入とが、引き続いて行なわれる場合に、採られることができる。

#### 【0053】

以上の説明から明らかなとおり、基板7に貫通形成された通孔3'、4'、パッキン部材44に貫通形成された通孔3-1、4-1、カバーブロック体33の底部33aに貫通形成された通孔3-2、4-2は、それぞれ互いに連通し合っており、このようにして連通し合う通孔4'、4-1、4-2から形成される1本の通孔集合体の6ユニット分は、図8に図示される姿勢でカバーブロック体33に装着されたガイドブロック体34に形成された6個の通孔34cに1対1で対応して、それらの中心線を共有している（図11、図12参照）。なお、基板7に貫通形成された通孔3'、4'は、非常に微小であるので、図11、図12においては、図示されていない。通孔4-1、4-2から成る通孔の集合体は、図1における通孔4に相当している。

#### 【0054】

したがって、今、ウエル2A、2B、通路1に細胞等張液が満たされ、ウエル2Bに走化性因子含有溶液が注入されているとし、ウエル2Aにマイクロピペットにより細胞浮遊液を注入しようとするとき、マイクロピペットの針の先端を使用対称となるユニットのウエル2Aに通ずる通孔34cに挿入して、これにガイドさせながら所要深さまで進入させ



、そこで細胞浮遊液を吐出すると、吐出された細胞浮遊液は、次いで、通孔4-2、4-1、4'を順次流下して、ウエル2Aに到る。このとき、ウエル2A内の圧力上昇は、通孔3'、3-1、3-2を経て外部に逃がすことができ、走化性因子含有溶液に反応する細胞の走化性に対する圧力変動の影響を最小限にすることができる。

#### 【0055】

ウエル2Bにマイクロピペットにより走化性因子含有溶液を注入しようとするときも、同じ要領にて行ない、マイクロピペットから吐出された走化性因子含有溶液を、今度は、ウエル2B側に属する通孔4-2、4-1、4'を順次流下させて、ウエル2Bに到らせることができる。

#### 【0056】

ウエル2Aに供給された細胞浮遊液中の細胞は、ウエル2B内の走化性因子含有溶液に反応すると、流路1を通過してウエル2Aからウエル2Bへと移動する。その状態および数を、細胞レベルで、窓31cを通して顕微鏡により観察、計測することができる。

#### 【0057】

このようにして、流路1を通過してウエル2Aからウエル2Bへと移動する細胞の走化性の検出、その性質を利用した細胞の分離などの作業を行なうのには、これらの領域を満たしている混合液の温度を、その細胞の活動に適した温度に管理する必要がある。また、細胞の温度変化による反応等をより正確に計測、分析したいときにも、混合液の温度管理は必要である。なお、ここで、これらの領域を満たしている混合液とは、細胞等張液と細胞浮遊液との混合液、細胞等張液と走化性因子含有溶液との混合液であり、両混合液の温度は、略等しい。

#### 【0058】

上記の目的のために、本実施例においては、図15に図示されるように、2台の温度調節器62、63を用い、そのうちの1台目の温度調節器62は、温度センサー35を用いて混合液の温度を直接計測し、ヒータにより加熱される加熱部64を、チェンバー30をその上にセットした状態で、温度制御して、温度管理の精度を高める。また、2台目の温度調節器63は、加熱部64を事前に加熱しておき、混合液の温度が所望の温度に調節できるまでの時間を短縮できるようにする。この温度調節器63は、また、加熱部64の過熱防止の機能をも備えている。

#### 【0059】

温度センサー35を用いて混合液の温度を直接計測するために、温度センサー35の温度測定部35bは、図12に図示されるように、台座部分35aから下方に伸びて、混合液と同等の溶液で満たされた液溜め室45内に直接沈められている。この液溜め室45内の溶液は、加熱部64による間接的な加熱を一对のウエル2A、2Bと流路1とを満たしている溶液と等しく受けて、その溶液の温度と等しい温度に昇温することができ、温度センサー35は、一对のウエル2A、2Bと流路1とを満たしている溶液の温度と略等しい温度を測定することができる。液溜め室45内の溶液の液位レベルは、カバーブロック体33内の混合液の液位レベルLと略同等である。

#### 【0060】

液溜め室45は、カバーブロック体33の胴体部の外周壁の一部が上下方向に削り取られて形成された凹部が、中間支持体32の内周壁により周囲を囲まれて形成されたものである。この液溜め室45は、ウエル2A、2B、通路1およびこれらに連通する領域から隔離されて設けられるのが望ましい。このために、液溜め室45の下方部において、液溜め室45がウエル2A、2B、通路1およびこれらに連通する領域と接続する個所にパッキン（図示されず）を介装する。このようにすることにより、1台目の温度調整器62の温度測定部35bは、一对のウエル2A、2Bや流路1内に満たされた細胞を含む溶液を汚染することなく、その溶液の温度を正確に測定することができる。

#### 【0061】

図15に図示されるブロック線図により、チェンバー内混合液の温度制御システム60について、さらに詳細に説明すると、まず、温度調節スイッチ66がONにされ、切り替



えスイッチ 67 の予熱側が ON にされることにより、温度調節器 63 による調節下での加熱部 64 の予熱が開始される。この予熱は、加熱部 64 の温度をセンサ 65 により測定して、それをフィードバックしながら行なわれる。予熱温度の指定は、コンピュータ 61 により行なわれる。このコンピュータ 61 は、ノート型パソコン 50 に内蔵されるものである。69 は、ソリッドステートリレー (SSR) である。

#### 【0062】

加熱部 64 の温度が所定の予熱温度に到達し、加熱部 64 の上に細胞観察チェンバー 30 が載置されると、切り替えスイッチ 67 の加熱側が ON になるように切り替えられ、温度調節器 62 による調節下での加熱部 64 の加熱が開始される。この加熱は、チェンバー内混合液を所定の温度にまで加熱することを目的としており、チェンバー内混合液の温度をセンサ 35 により測定して、それをフィードバックしながら行なわれる。加熱温度の指定は、コンピュータ 61 により行なわれる。加熱部 64 は、前記した予熱により、所定の温度にまで上昇しているのので、この加熱により、チェンバー内混合液を所定の温度にまで加熱するのは、短時間で行なわれる。

#### 【0063】

チェンバー内混合液の温度が所定の温度に到達すると、温度調節器 62 は、その温度を維持するように加熱部 64 の加熱制御を行なう。何らかの原因、例えば、チェンバー 30 が加熱部 64 に接触していない、などにより、加熱部 64 の温度が異常（例えば、 $43^{\circ}\text{C}$ ）に上昇すると、温度調節器 63 がリレー 68 を作動させ、回路を遮断する。なお、温度調節器 62 も、チェンバー内混合液の温度が異常（例えば、 $38\sim 40^{\circ}\text{C}$ ）に上昇すると、リレー 68 を作動させ、回路を遮断するようになっている。

#### 【0064】

コンピュータ 61 は、加熱部 64 の温度、チェンバー内混合液の温度、センサ 35、65 の状態等を常時モニターし、ディスプレイに表示し、また、温度調節器 62、温度調節器 63 に加熱温度、予熱温度の指定をそれぞれ行なう。

#### 【0065】

なお、ここで、本実施例の細胞観察チェンバー 30 の実際の組立の手順について、詳細に説明しておく。

まず、底支持体 31 にガラス基板 8 を装着する。次いで、底支持体 31 に中間支持体 32 を嵌め合わせ、カム操作レバー 37 を回動することにより、中間支持体 32 を上方から Oリング 43 を介して底支持体 31 に圧接させて、これに装着する。これにより、媒質の漏洩が防止されて、これらの部品組立体に容器としての機能を持たせることができる。次いで、中間支持体 32 の底部 32a の中央部に形成された開口部 32c にガイドさせながら、基板 7 をガラス基板 8 上に載置し、底面部にパッキン部材 44 が装着されたカバーブロック体 33 を中間支持体 32 に嵌め合わせ、カム操作レバー 36 を回動することにより、パッキン部材 44 を上方から基板 7 に圧接させるとともに、基板 7 をガラス基板 8 に圧接させる。同時に、カバーブロック体 33 は、Oリング 42 を介して中間支持体 32 に圧接されて、媒質の漏洩が防止され、これらの部品全体から成る組立体（細胞観察チェンバー 30）にも、容器としての機能を持たせることができる。

#### 【0066】

本実施例の細胞観察チェンバー 30 は、前記のように構成されているので、次のような効果を奏することができる。

細胞観察チェンバー 30 内の溶液温度調整装置は、第 1 の温度調整器 62 と第 2 の温度調整器 63 とを備え、第 1 の温度調整器 62 は、一对のウエル 2A、2B と流路 1 とを満たしている溶液の温度を測定して、これを所定の温度に調整し、第 2 の温度調整器 63 は、細胞観察チェンバー 30 を外部から加熱して、これにより、一对のウエル 2A、2B と流路 1 とを満たしている溶液を間接的に加熱する加熱部 64 の温度を測定して、これを所定の予熱温度に調整するので、第 2 の温度調整器 63 により所定の予熱温度に調整された加熱部 64 に細胞観察チェンバー 30 を載置し、次いで、第 1 の温度調整器 62 により、細胞観察チェンバー 30 内的一对のウエル 2A、2B と流路 1 とを満たしている溶液の温

度を測定しつつ、これを所定の温度に調整し、保持することができ、細胞観察チェンバー 30 内の溶液の温度を所望の一定の温度にするのに要する時間を短縮して、その温度管理の精度を格段に向上させることができる。

**【0067】**

また、第 1 の温度調整器 62 が備える温度センサー 35 の温度測定部 35b は、細胞観察チェンバー 30 に着脱自在に装着され、細胞観察チェンバー 30 内に形成された液溜め室 45 内の溶液中に浸漬されており、該液溜め室 45 は、その中の溶液が、加熱部 64 による間接的な加熱を一对のウエル 2A、2B と流路 1 とを満たしている溶液と等しく受けてその溶液の温度と等しい温度に昇温することができる、隔離された位置に設けられているので、温度測定部 35b は、一对のウエル 2A、2B や流路 1 内に満たされた細胞を含む溶液を汚染することなく、その溶液の温度を正確に測定することができる。

**【0068】**

さらに、温度センサー 35 は、細胞観察チェンバー 30 に着脱自在に装着されるので、その取付け・取外しは簡単であり、細胞観察チェンバー 30 の組立・分解に際して、それを取り外すことにより、邪魔になることもなく、組立・分解作業を円滑に行なうことができる。

**【0069】**

また、第 2 の温度調整器 63 は、加熱部 64 の過熱防止機能を備えているので、細胞の死滅や試料溶液（細胞浮遊液、走化性因子含有溶液等）の機能の損傷を防ぐことができるとともに、細胞観察チェンバー 30 の過熱による損傷を防ぐことができる。また、加熱部 64 と細胞観察チェンバー 30 との間に接触不良があっても、第 1 の温度調整器 62 に過熱防止機能を備えさせていたのでは、加熱部 64 の過熱を防ぐことができないが、第 1 の温度調整器 62 に過熱防止機能を備えさせているので、確実に、加熱部 64 の過熱を防ぐことができる。

その他、前述したような種々の効果を奏することができる。

**【0070】**

なお、本願の発明は、以上の実施例に限定されず、その要旨を逸脱しない範囲において、種々の変形が可能である。

**【図面の簡単な説明】****【0071】**

【図 1】本願の発明の細胞観察チェンバーの作動原理を示す、ウエル、流路および通孔を含む装置ユニット部分の縦断面図である。

【図 2】同下面図である。

【図 3】同流路部分の拡大横断面図である。

【図 4】同流路部分の下面図である。

【図 5】同流路部分の縦断面図である。

【図 6】本実施例の細胞観察チェンバーが適用される細胞走化性検出・走化性細胞分離装置の全体斜視図である。

【図 7】本実施例の細胞観察チェンバーの全体斜視図である。

【図 8】同平面図である。

【図 9】同前側面図である。

【図 10】同右側面図である。

【図 11】同 X I - X I 線矢視断面図である。

【図 12】同 X I I - X I I 線矢視断面図である。

【図 13】同一部分斜視図である。

【図 14】さらに分解を進めた同一部分斜視図である。

【図 15】チェンバー内混合液の温度制御システムのブロック線図である。

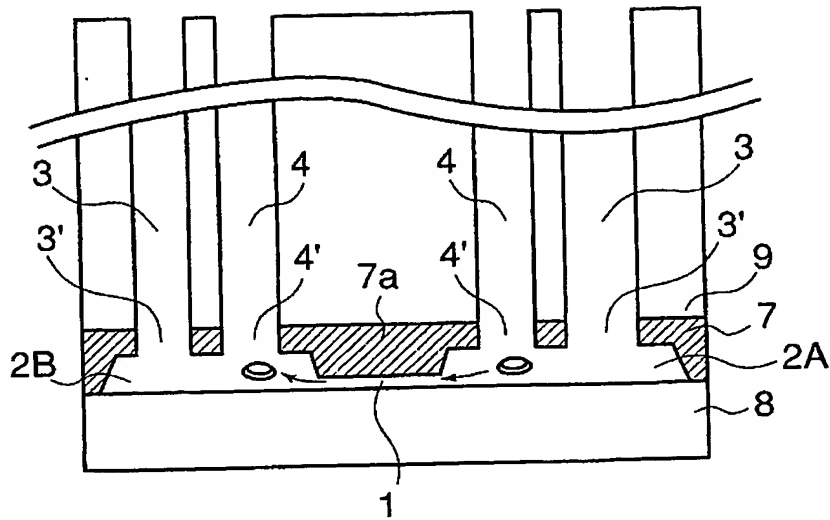
【図 16】従来の細胞観察チェンバーの分解図である。

**【符号の説明】****【0072】**

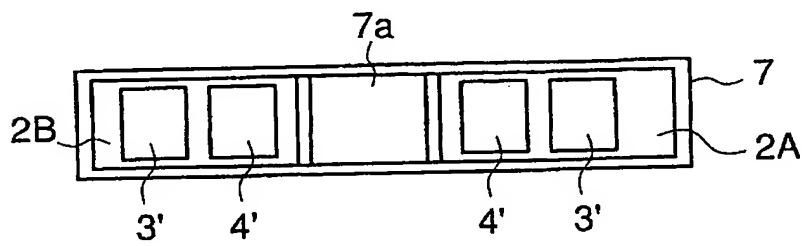
1…細胞の流路、2 (2A、2B) …ウエル、3、3'、3-1、3-2…通孔、4、4'、4-1、4-2…通孔、5…溝、6…障壁、7…基板、8…ガラス基板、9…ブロック体、10…細胞走化性検出・走化性細胞分離装置、20…ケーシング、21…水準器、22…明るさ調整つまみ、23…位置調整つまみ、24…焦点調整レバー、30…細胞観察チェンバー、31…底支持体、31a…底部、31b…胴体部、31c…窓、32…中間支持体、32a…底部、32b…フランジ部、32c…開口部、33…カバーブロック体、33a…底部、33b…フランジ部、33c…中央凹部、34…ガイドブロック体、34a…中央膨大部、34b…アーム部、34c…通孔、35…温度センサー、35a…台座部分、35b…温度測定部、36…カム操作レバー、36a…脚部の端部、36b…カム溝、37…カム操作レバー、37a…脚部の端部、37b…カム溝、38…支持軸、39、40、41…ピン、42、43…Oリング、44…パッキン部材、45…液溜め室、46、47…ピン、50…ノート型パソコン、60…チェンバー内混合液温度制御システム、61…コンピュータ、62、63…温度調節器、64…加熱部、65…温度センサー、66…温度調節スイッチ、67…切り替えスイッチ、68…リレー、69…ソリッドステートリレー (SSR)、70…顕微鏡、a…中心線、L…液レベル。

【書類名】 図面

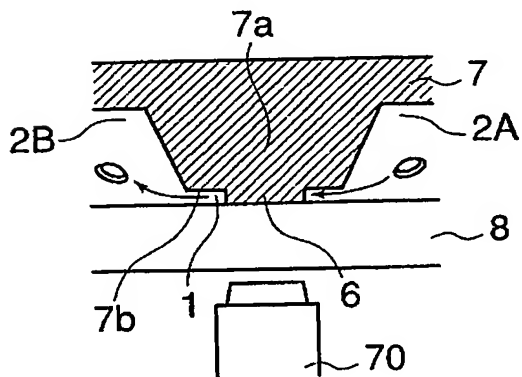
【図 1】



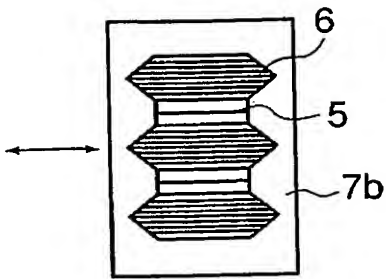
【図 2】



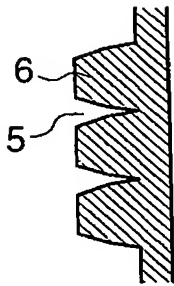
【図 3】



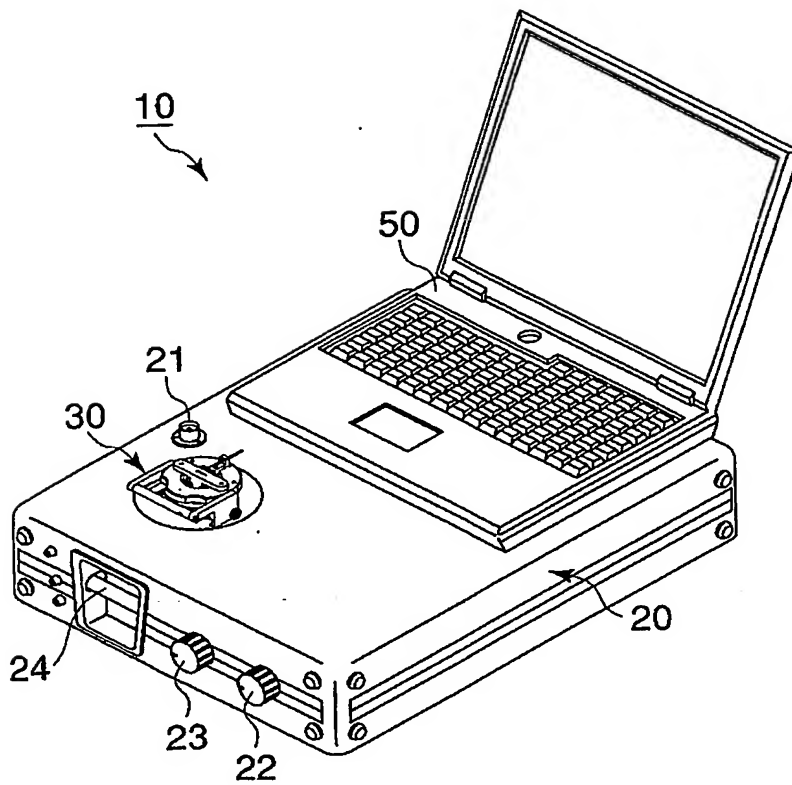
【図 4】



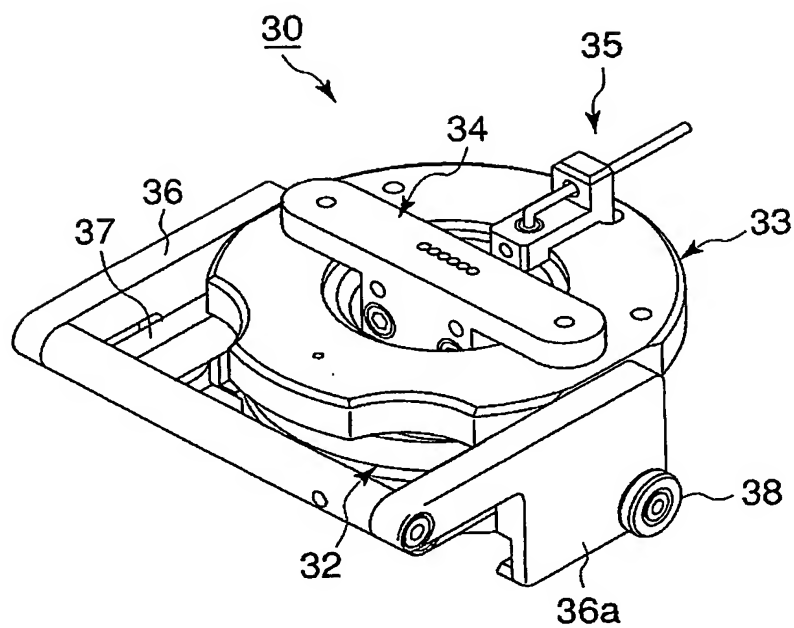
【図 5】



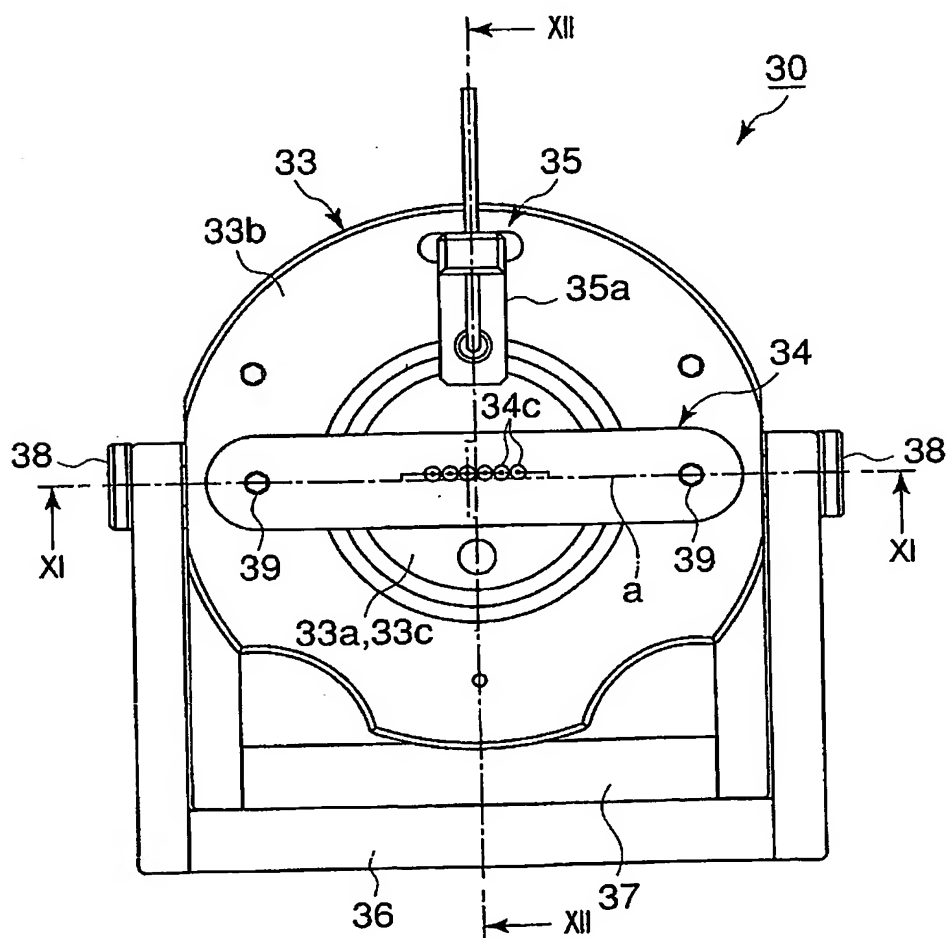
【図 6】



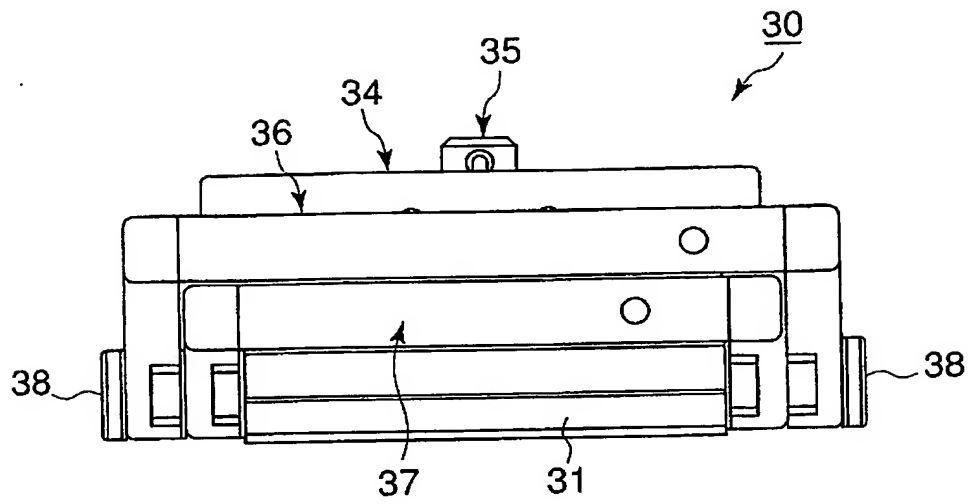
【図 7】



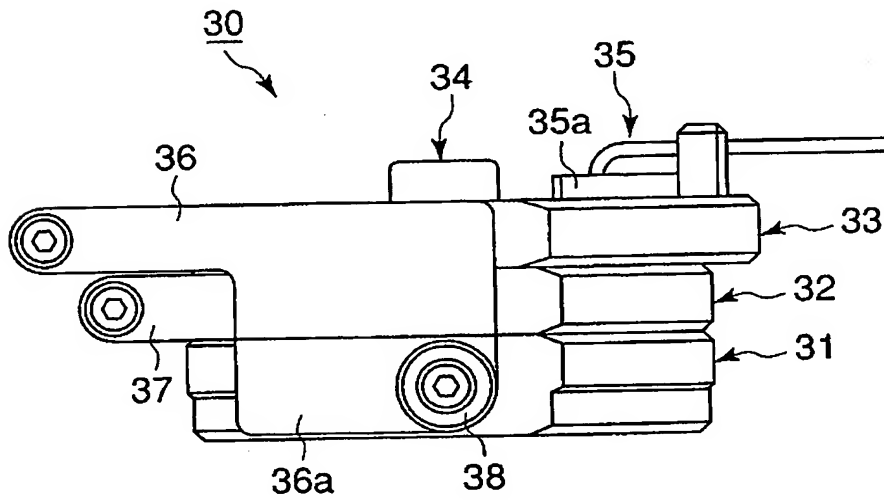
【図 8】



【図 9】

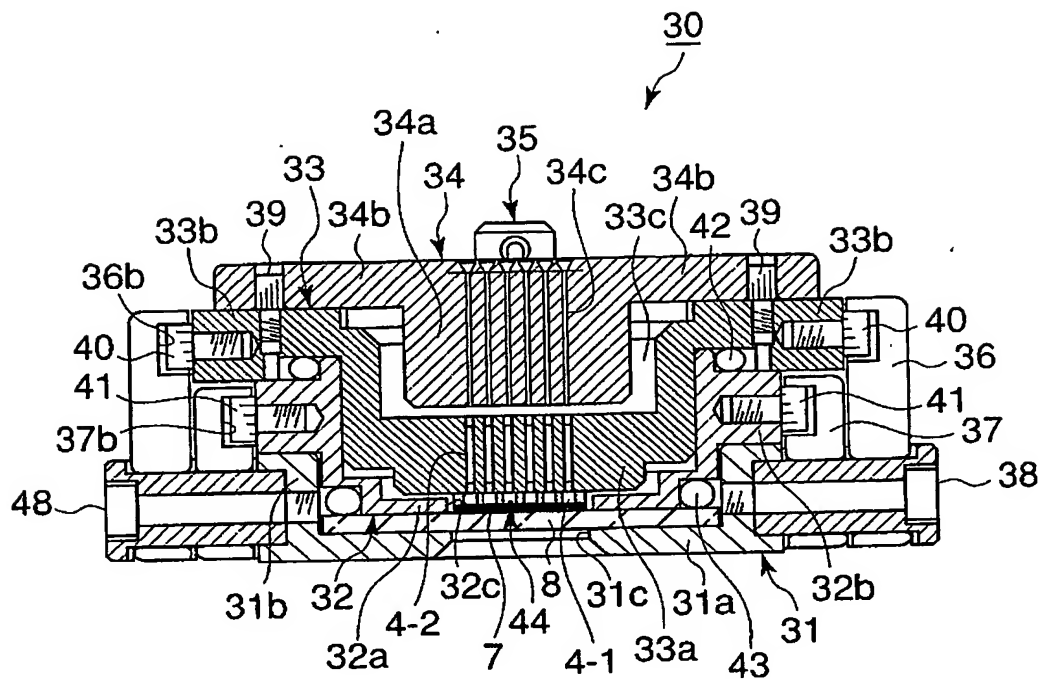


【図 10】

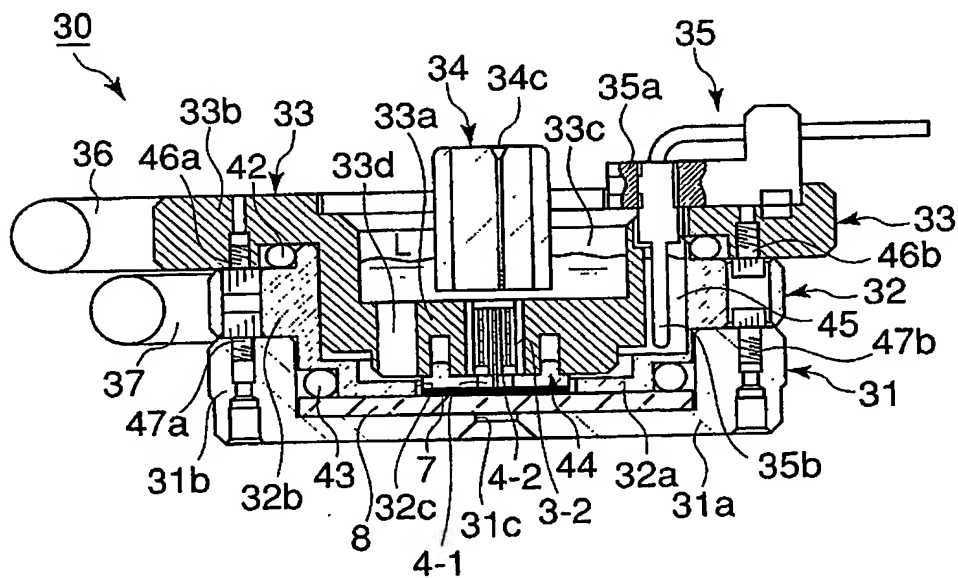




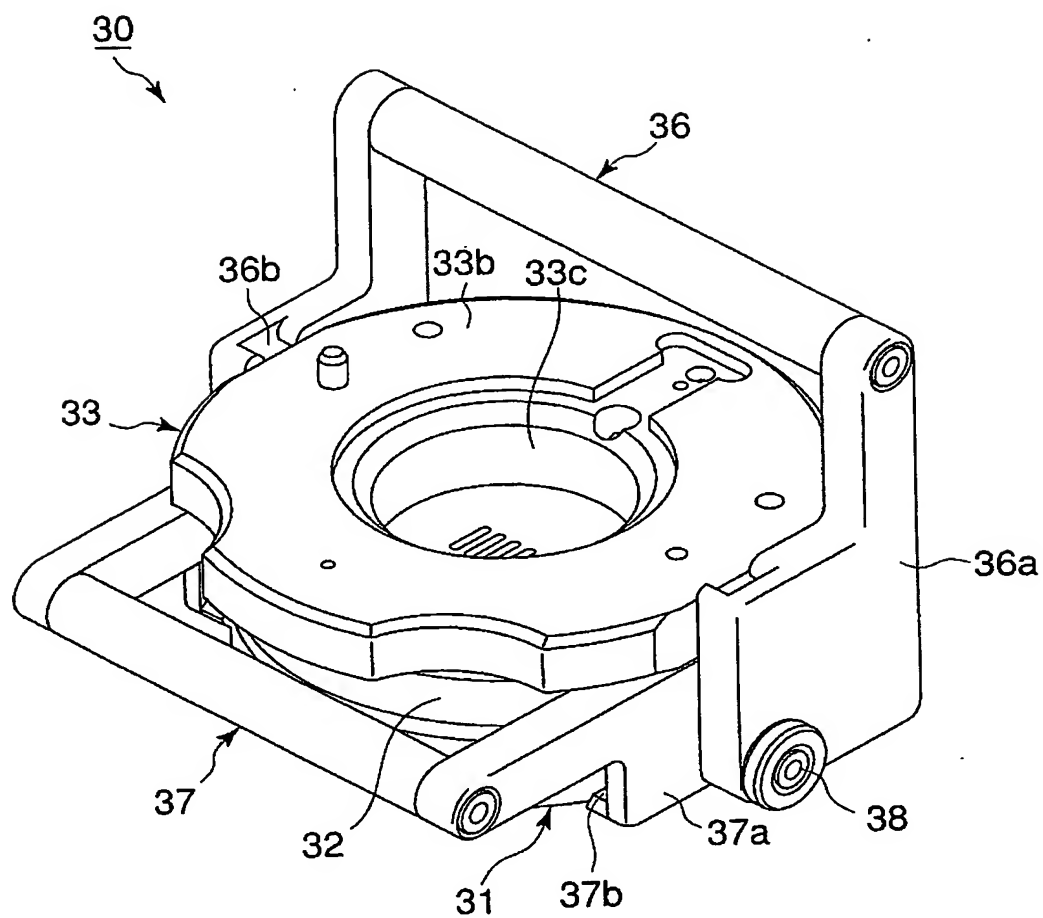
【図11】



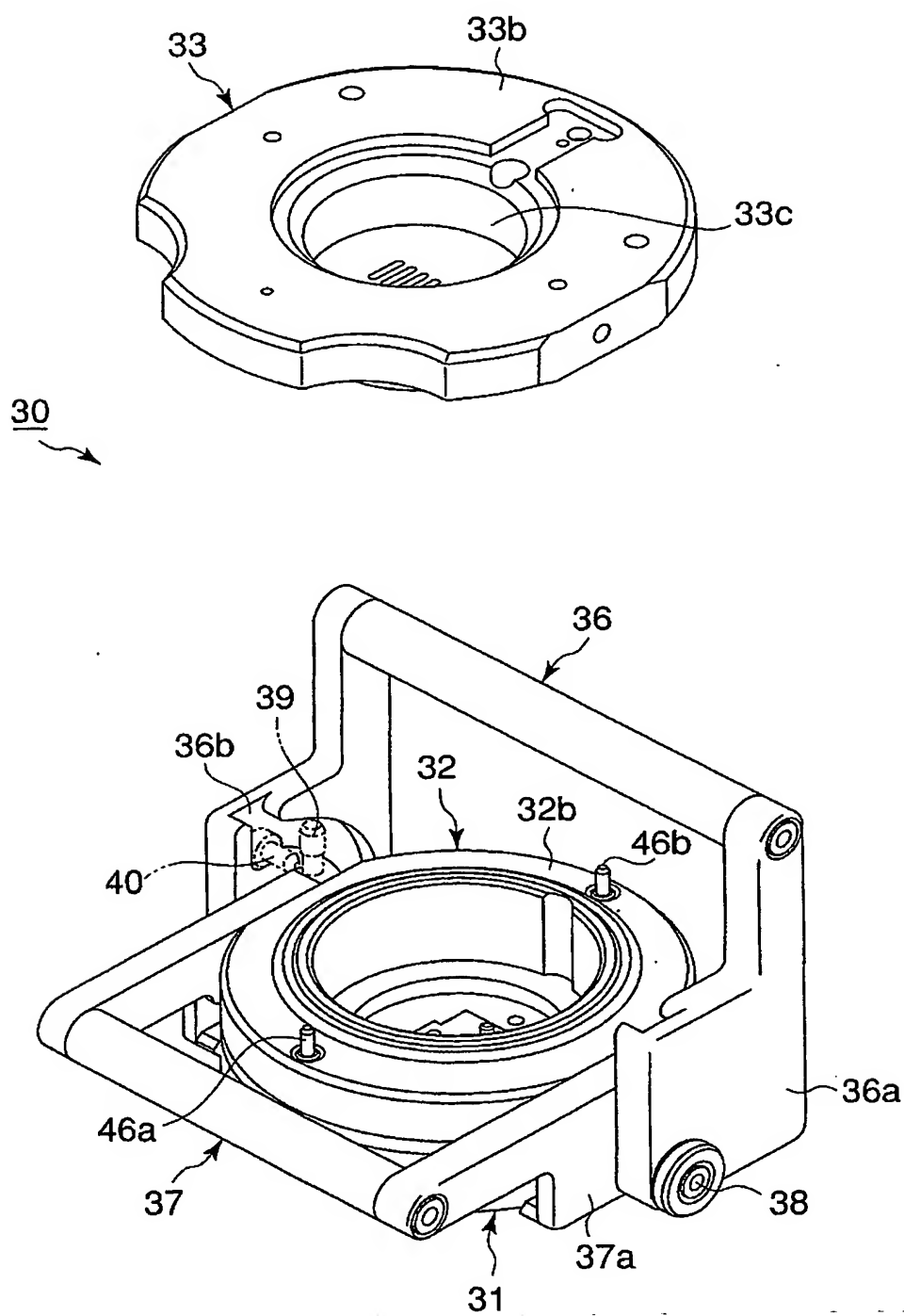
【図12】



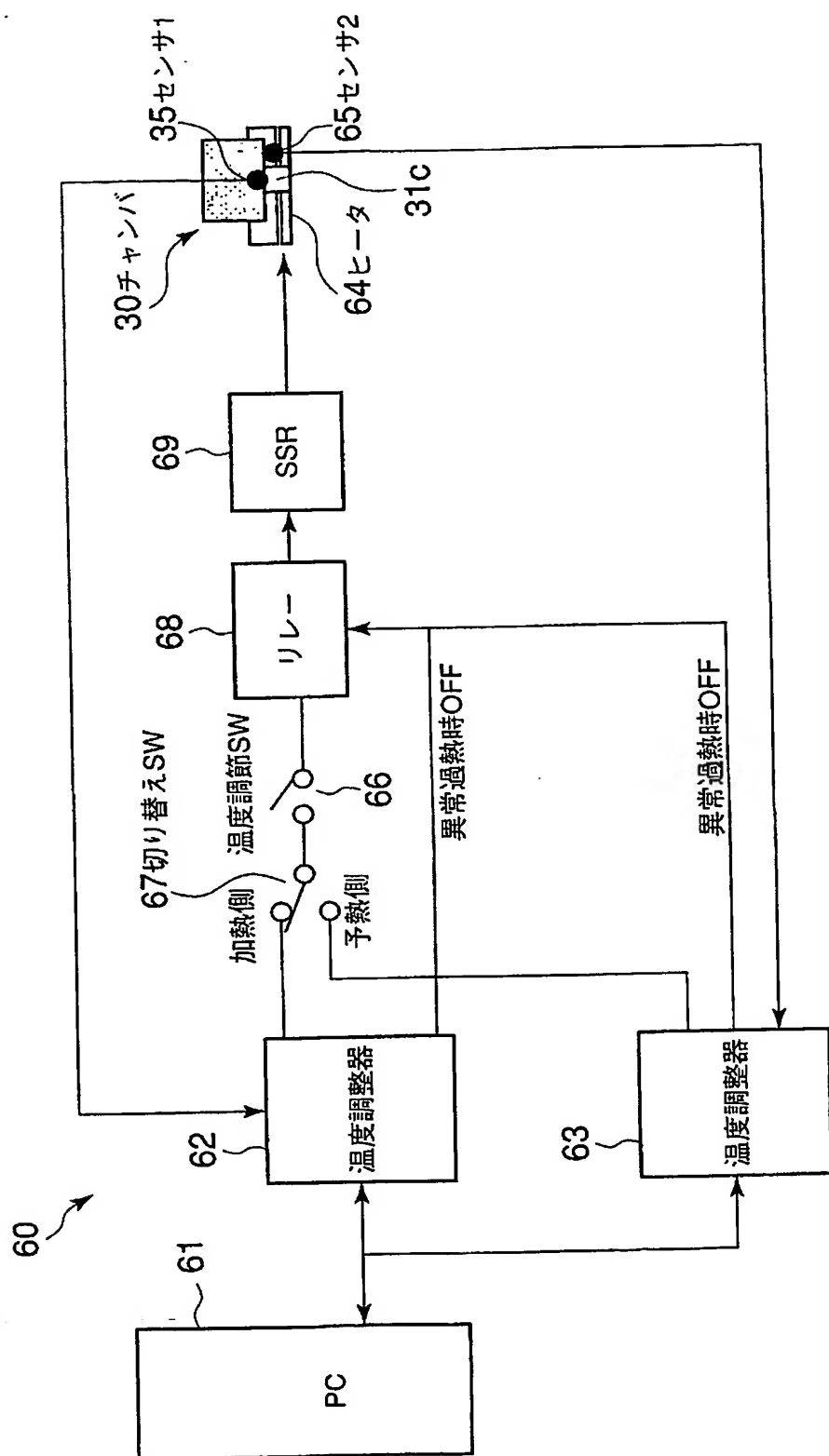
【図 13】



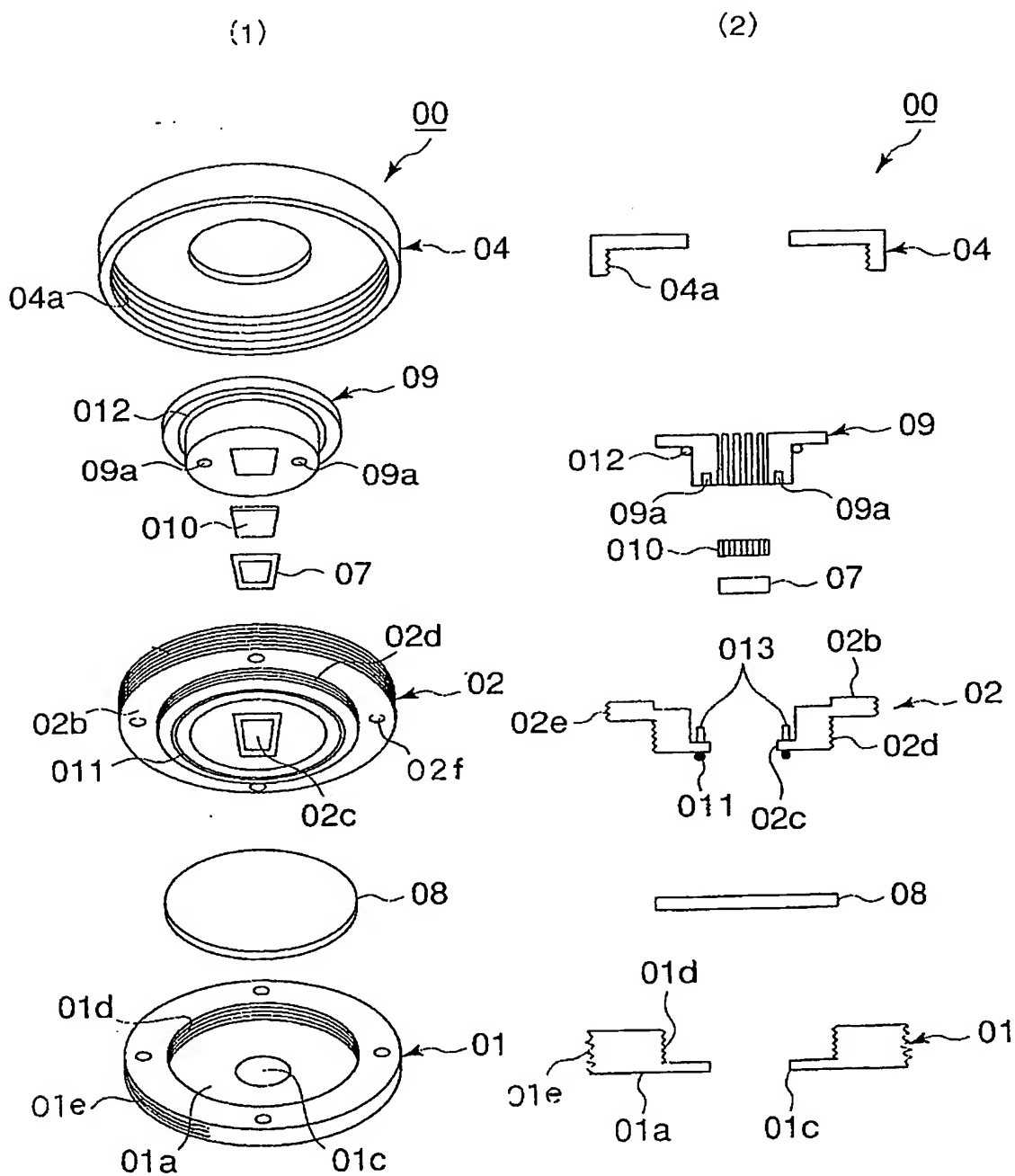
【図 14】



【図15】



【図16】



## 【書類名】 要約書

## 【要約】

【課題】 細胞走化性検出・走化性細胞分離装置に使用される細胞観察チェンバーにおいて、チェンバー内溶液の温度を所望の一定の温度に保持するのが容易で、溶液の温度管理の精度を格段に向上させることができる溶液温度調整装置を提供する。

【解決手段】 細胞観察チェンバー 30 に第 1 の温度調整器 62 と第 2 の温度調整器 63 とを具備せしめ、第 1 の温度調整器 62 は、チェンバー内の一对のウエルと流路とを満たしている溶液の温度を測定して、これを所定の温度に調整するようにし、第 2 の温度調整器 63 は、チェンバー 30 を外部から加熱して、これにより、一对のウエルと流路とを満たしている溶液を間接的に加熱する加熱部 64 の温度を測定して、これを所定の予熱温度に調整するようにする。これにより、溶液の温度を所定の温度に保持しつつ、一方のウエルから他方のウエルに流路を通して細胞が移動する状態、数を正確に観察、計測できる。

【選択図】 図 15

認定・付加情報

特許出願の番号	特願2003-330736
受付番号	50301565546
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0094
作成日	平成15年 9月24日

<認定情報・付加情報>

【提出日】 平成15年 9月22日



【書類名】	出願人名義変更届
【提出日】	平成16年 5月21日
【あて先】	特許庁長官殿
【事件の表示】	
【出願番号】	特願2003-330736
【承継人】	
【住所又は居所】	東京都目黒区駒場 1 - 3 3 - 8
【氏名又は名称】	株式会社エフエクター細胞研究所
【代表者】	金ヶ崎 士朗
【承継人代理人】	
【識別番号】	100108545
【弁理士】	
【氏名又は名称】	井上 元廣
【提出物件の目録】	
【物件名】	譲渡証 1
【物件名】	委任状 1

【物件名】

譲渡証

【添付書類】



譲渡証

平成16年 5 月 21 日

東京都東京都目黒区駒場1-33-8  
株式会社エフェクター細胞研究所 殿

私は、下記の出願の発明について、特許を受ける権利の一部を貴殿に譲渡した  
ことに相違ありません。

記

1. 特願2003-330735  
出願日：平成15年9月22日  
発明の名称：細胞観察チェンバー
2. 特願2003-330736  
出願日：平成15年9月22日  
発明の名称：細胞観察チェンバー内の溶液温度調整装置
3. 特願2003-400927  
出願日：平成15年12月1日  
発明の名称：細胞観察装置

東京都品川区戸越3丁目9番20号  
平田機工株式会社  
代表者 平田 耕也



【物件名】

委任状

【添付書類】



## 委任状

平成16年 5月21日

私は、

識別番号100108545弁理士 井上 元廣氏をもって代理人として、下記事項  
を委任します。

## 1. 下記の出願に関する一切の手続

## ①特願2003-330735

出願日:平成15年9月22日

発明の名称:細胞観察チェンバー

## ②特願2003-330736

出願日:平成15年9月22日

発明の名称:細胞観察チェンバー内の溶液温度調整装置

## ③特願2003-400927

出願日:平成15年12月1日

発明の名称:細胞観察装置

2. 上記項の手続に係る行政不服審査法に基づく諸手続
3. 上記各項の手続に係る復代理人の選任および解任
4. 上記出願に係る出願人の名義変更に関する手続

住所(居所) 東京都東京都目黒区駒場1-33-8  
氏名(名称) 株式会社エフェクター細胞研究所  
代表者 金ヶ崎 士郎



認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2003-330736
受付番号	20400950066
書類名	出願人名義変更届
担当官	神田 美恵 7397
作成日	平成16年10月 1日

<認定情報・付加情報>

【提出された物件の記事】

【提出物件名】	委任状（代理権を証明する書面）	1
【提出物件名】	譲渡証	1

特願 2003-330736

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[391032358]

1. 変更年月日

1991年 4月 1日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都品川区戸越3丁目9番20号

氏 名

平田機工株式会社

特願 2003-330736

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[500201406]

1. 変更年月日

2000年 4月28日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都目黒区駒場4-6-2メゾン駒場401号

氏 名

株式会社 エフェクター細胞研究所

2. 変更年月日

2004年 2月13日

[変更理由]

住所変更

住 所

東京都目黒区駒場一丁目33番8号

氏 名

株式会社 エフェクター細胞研究所

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☒ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**